

## ⑫ 公開特許公報(A)

昭62-99329

⑤ Int. Cl.<sup>4</sup>

A 61 K 31/60

識別記号

ADA  
ABE

庁内整理番号

7252-4C

④ 公開 昭和62年(1987)5月8日

// C 07 D 277/46  
277/827330-4C  
7330-4C

審査請求 未請求 発明の数 1 (全10頁)

⑬ 発明の名称 皮膚用抗炎症組成物

⑭ 特 願 昭60-237164

⑮ 出 願 昭60(1985)10月23日

⑯ 発 明 者 トーマス・ダグリユ・  
リツチエイ アメリカ合衆国、ステイト・オブ・ニュー・ジャージー、  
カウンティ・オブ・バーゲン、ノーウッド、サマセット・  
ロード・206⑰ 出 願 人 ユニリーバー・ナーム  
ローゼ・ベンノートシ  
ヤーブ オランダ国、ロッテルダム、バージミースターズ・ヤコブ  
プレーン・1

⑱ 代 理 人 弁理士 川口 義雄

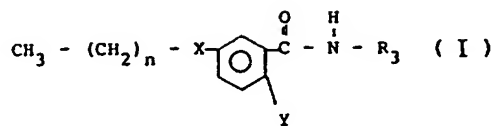
## 明 細 書

## 1. 発明の名称

皮膚用抗炎症組成物

## 2. 特許請求の範囲

## (1) 式 I



[ 式中、n は 3~14 の整数、R<sub>3</sub> はチアゾール-  
2-イル、ベンゾチアゾール-2-イル、<sup>あ3い3</sup> R<sub>4</sub> に  
より置換されたフェニルあるいは  $-\text{CH}_2-\text{R}_6$  で  
あり、R<sub>4</sub> は  $-\text{CH}_2\text{R}_5$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 、  
互変体対  $-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_3$  及び  $-\text{C}(=\text{OH})-\text{CH}_2$ 、  
 $-\text{CH}_2\text{COOH}$ 、 $-\text{COOCH}_3$ 、  
 $-\text{COOC}_2\text{H}_5$ 、 $-\text{CH}_2\text{COOCH}_3$ 、  
 $-\text{CH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$ 、 $-\text{NO}_2$  あるいは  
 $-\text{CX}_1\text{X}_2\text{X}_3$  であり、X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub> 及び X<sub>3</sub> は

ハロゲン原子であり、R<sub>5</sub> は H、アルキル、シク  
ロアルキルあるいはそれ等の不飽和等価物、總数  
約 24 までの炭素原子を含むアリールあるいはヘテ  
ロアリールであり、X は  $-\text{C}=\text{O}-$  あるいはフェ  
ニル環にアルキル基を結合する共有結合であり、  
Y は  $-\text{OH}$  あるいは  $-\text{OOC}-\text{CH}=\text{CH}_2$  であ  
る] の化合物を含有する皮膚用抗炎症組成物。

(2) 式 I において、R<sub>3</sub> が R<sub>4</sub> により置換された  
フェニルであり、R<sub>4</sub> が  $-\text{CX}_1\text{X}_2\text{X}_3$  であつ  
て X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub> 及び X<sub>3</sub> が同一のハロゲン原子であ  
る特許請求の範囲第 1 項に記載の抗炎症組成物。

(3) X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub> 及び X<sub>3</sub> がフッ素原子である特許  
請求の範囲第 2 項に記載の抗炎症組成物。

(4) 式 I において R<sub>3</sub> が R<sub>4</sub> により置換されたフ  
ェニルであり R<sub>4</sub> が  $-\text{NO}_2$  である特許請求の範  
囲第 1 項に記載の抗炎症組成物。

(5) 式 I において R<sub>3</sub> が R<sub>4</sub> により置換されたフ

エニルであり $R_4$ がメタ-CF<sub>3</sub>である特許請求の範囲第1項に記載の抗炎症組成物。

例 式Iにおいて $R_3$ が $R_4$ により置換されたフェニルであり $R_4$ がパラ位置にある特許請求の範囲第1項に記載の抗炎症組成物。

- (7) (a)  $n$ が8,  $X$ が-C=O-,  $Y$ がヒドロキシで $R_3$ が

-ニトロフェニル;あるいは

(b)  $n$ が6,  $X$ が-C=O-,  $Y$ がヒドロキシで $R_3$ が

-トリフルオロメチルフェニル;あるいは

(c)  $n$ が6,  $X$ が-C=O-,  $Y$ がヒドロキシで $R_3$ が

-トリフルオロメチルフェニル;あるいは

(d)  $n$ が5,  $X$ が共有結合,  $Y$ がヒドロキシで $R_3$ が

-ニトロフェニル;あるいは

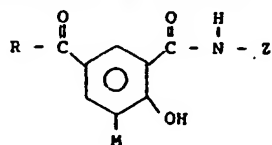
(e)  $n$ が3,  $X$ が共有結合,  $Y$ がヒドロキシで $R_3$ が

-トリフルオロメチルフェニル;ある

#### [先行技術]

“ネイチュア(Nature)”, 222, 275:1969;  
 “ジェイ・メド・ケム(J. Med. Chem.)”,  
14, 973(1971); “ジェイ・メド・ケム”, 14,  
 1171(1971); “ジェイ・メド・ケム”, 15,  
 551(1972); “ジェイ・メド・ケム”, 15,  
 848(1972)及び“ジェイ・メド・ケム”, 16,  
 493(1973)に、抗炎症活性を有する種々のアミ  
 ド化合物が報告されている。

日本特許公開、特開昭56-161322号は抗細菌活  
 性を有する組成物を開示しており、この組成物は  
 菌垢に関連する微生物の生長を制御するのに特に  
 有用であり本発明に使用する式



[上式中、Zは置換基を含めて6~30個の炭素原

いは

- (f)  $n$ が7,  $X$ が-C=O-,  $Y$ がヒドロキシで $R_3$ が

-カルベトキシフェニル;あるいは

(g)  $n$ が8,  $X$ が-C=O-,  $Y$ がヒドロキシで $R_3$ が

-ベンゾチアゾール-2-イル;あるいは

(h)  $n$ が14,  $X$ が-C=O-,  $Y$ がヒドロキシで $R_3$ が

-チアゾール-2-イル;あるいは

(i)  $n$ が8,  $X$ が-C=O-,  $Y$ がアクリロイル  
 オキシで $R_3$ が

-ニトロフェニル;

あるいはその混合物である特許請求の範囲第1項  
 に記載の抗炎症組成物。

#### 3. 発明の詳細な説明

##### [発明の分野]

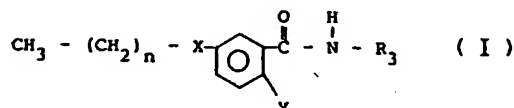
本発明はある種のサリチルアニリドを含む2級  
 アミド化合物を含有する皮膚用抗炎症組成物に係  
 る。

子を有する置換フェニル環であり、Rは置換基  
 を含めて2~30個の炭素原子を有する置換あるい  
 は未置換のアルキル又はフェニル基であり、Mは  
 -CN, -F, NO<sub>2</sub>, -H, 低級アルキルある  
 いは低級ハロアルキルから選択される基である。]  
 の化合物を含む新規な5-アシル-サリチルアニ  
 リドを含有している。

日本特許公開、特開昭57-112360号には  
 R-C=O-基をR基に置き換えた類似の抗細菌  
 組成物が記載されている。

##### [本発明の組成物]

本発明の皮膚用抗炎症組成物は下記式I



[式中、 $n$ は3~14の整数、 $R_3$ はチアゾール-  
 2-イル、ベンゾチアゾール-2-イル、<sup>あるい</sup> $R_4$ に

より置換されたフェニル、即ち式



あるいは  $\text{CH}_2\text{R}_6$  であって、 $\text{R}_4$  は  
 $-\text{CH}_2\text{R}_5$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 、互変体  
 $\text{O}$   
 $\text{H}$   
 $\text{対}-\text{C}-\text{CH}_3$  及び  $-\text{C}-\text{CH}_2$ 、  
 $-\text{CH}_2\text{COOH}$ 、 $-\text{COOCH}_3$ 、  
 $-\text{COOC}_2\text{H}_5$ 、 $-\text{CH}_2\text{COOCH}_3$ 、  
 $-\text{CH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$ 、 $-\text{NO}_2$  あるいは  
 $-\text{CX}_1\text{X}_2\text{X}_3$  であり、 $\text{X}_1$ 、 $\text{X}_2$  及び  $\text{X}_3$  は  
 ハロゲン原子であり、それ等は全て異なるハロゲ  
 ン原子であってもよく、2つ以上のハロゲン原子  
 が同一のものでよく、 $\text{R}_5$  はH、アルキル、シ  
 クロアルキルあるいはそれ等の不飽和等価物、総  
 数約24までの炭素原子を含むアリーールあるいはヘ  
 テロアリーールであり、 $\text{X}$ は $-\text{C}=\text{O}-$ あるいはフ

得る。

式Iの化合物を適当な担体と組み合わせて、点  
 耳液、目薬、点鼻液、肛門用及び腔用座薬、洗眼  
 剤、灌注液及びリニメント、ゲル、ローション等  
 とすることができる。本発明の組成物は例えば耳、  
 目、鼻、口、肛門、腔その他あらゆる患部器官あ  
 りいは孔に適用し得るものである。

式Iを有する化合物を例えば軟膏、スティック  
 シャンプー、石けん、クリーム、水あるいはその  
 他の溶液、エアゾールベース、薬用パッド、薬用  
 プラスター、薬用バンテージ、薬用包帯(dres-  
 sings)、リニメント剤、ゲルやローションの形態  
 で皮膚に局所適用すると、皮膚の炎症が軽減する。  
 皮膚炎症は、湿疹、乾癬、脂漏性皮膚炎、接触性  
 皮膚炎、アレルギー性皮膚炎、疥癬あるいは歯  
 ガシあるいはイラクサ(stinging nettle)による  
 反応の如き各種皮膚疾患により起こりうる。また、

エニル環にアルキル基を結合する共有結合であり、  
 $\text{Y}$ は $-\text{OH}$ あるいは $-\text{OOC}-\text{CH}=\text{CH}_2$ であ  
 る]の化合物を含有する。 $\text{R}_3$ が $\text{R}_4$ により置換  
 されたベンゼン環の場合、 $\text{R}_4$ は好ましくはバラ  
 $-\text{NO}_2$ 、メタ $-\text{COOC}_2\text{H}_5$ 又はメタあるい  
 はバラ $-\text{CF}_3$ である。

本発明の皮膚用抗炎症組成物は、一種以上の式  
 Iの化合物を調剤上許容し得る担体ベヒクル中に  
 含有し、担体ベヒクルは石油ゼリー、ラノリン、  
 パラフィンワックス、アルカノール及びそれ等の  
 混合物、並びに下記する実施例に挙げるその他の  
 同等のベヒクルとし得る。ベヒクルとして軟膏、  
 スティック、カプセル、タブレット、注射液ある  
 いは懸濁液、その他の溶液、シャンプー、石鹸、  
 クリーム、水、エアゾル基材、医療用パッド、  
 医療用プラスター、医療用包帯、医療用ガーゼ、  
 医療用の生理用及び非生理用のタンポンを選択し

皮膚炎症は、紫外線あるいは他の電磁放射線によ  
 って引き起こされる組織損傷例えば日焼け、昆虫  
 等による刺傷、熱傷によっても起こる。

本発明の抗炎症組成物は式Iを有する下記化合  
 物の1種もしくはそれ以上を含むことが好ましい。

- (a)  $n=8$ 、 $\text{X}=-\text{C}=\text{O}-$ 、 $\text{Y}=\text{ヒドロキシ}$ 、  
 $-\text{R}_3=\text{パラニトロフェニルの化合物(これを}$   
 $\text{AN-10と呼称する)}$ ；
- (b)  $n=6$ 、 $\text{X}=-\text{C}=\text{O}-$ 、 $\text{Y}=\text{ヒドメキシ}$ 、  
 $-\text{R}_3=\text{パラトリフルオロメチルフェニルの化}$   
 $\text{合物(これをAPCF3-8と呼称する)}$ ；
- (c)  $n=6$ 、 $\text{X}=-\text{C}=\text{O}-$ 、 $\text{Y}=\text{ヒドロキシ}$ 、  
 $-\text{R}_3=\text{メタトリフルオロメチルフェニルの化}$   
 $\text{合物(これをAMCF3-8と呼称する)}$ ；
- (d)  $n=5$ 、 $\text{X}=\text{共有結合}$ 、 $\text{Y}=\text{ヒドロキシ}$ 、  
 $-\text{R}_3=\text{パラニトロフェニルの化合物(これを}$   
 $\text{SAN-6と呼称する)}$ ；

(e)  $n = 3$ ,  $X = \text{共有結合}$ ,  $Y = \text{ヒドロキシ}$ ,

$-R_3 = \text{メタトリフルオロメチルフェニル}$ の化合物(これをS-4-Fと称する);

(f)  $n = 7$ ,  $X = -C=O-$ ,  $Y = \text{ヒドロキシ}$ ,

$-R_3 = \text{メタカルボエトキシフェニル}$ の化合物(これをACBXE-9と称する);

(g)  $n = 8$ ,  $X = -C=O-$ ,  $Y = \text{ヒドロキシ}$ ,

$-R_3 = \text{ベンゾチアゾール-2-イル}$ の化合物(これをABC-4と称する);

(h)  $n = 14$ ,  $X = -C=O-$ ,  $Y = \text{ヒドロキシ}$ ,

$-R_3 = \text{チアゾール-2-イル}$ の化合物(これをRV-19と称する);

(i)  $n = 8$ ,  $X = -C=O-$ ,

$Y = CH_2 = CH-COO-$ ,  $-R_3 = \text{パラニトロフェニル}$ の化合物(これをアクリロイルAN-10と称する);

許容されうる担体ベヒクル中の式Iを有する第

テルを加水分解し、得られた遊離酸を置換アミンまたはアニリン $H_2N-R_3$ と反応させて5-アシルサリチルアミドを形成することからなる。本明細書中で使用する“低級アルキル”なる用語は、炭素数1~4のアルキルを指す。APCF3-8およびAMCF3-8の場合 $R_x$ は $n-C_7$ である。AN-10の場合には $n-C_9$ である。ACBXE-9, ABC-4およびRV-19の場合には夫々 $n-C_8$ ,  $n-C_9$ および $n-C_{15}$ である。SAN-6およびS-4-Fの場合には、酸塩化物 $R_x-CO-Cl$ を普通の塩化アルキル $R_x-Cl$ で置換することによりフリーデルクラフトアシル化工程をフリーデルクラフトアルキル化工程で置換する。フリーデルクラフトアルキル化の初期工程を経由して製造されるS-4-FおよびSAN-6の場合、 $R_x$ は夫々 $C_4$ および $C_6$ である。 $R_3$ は置換ベンゼン環またはチアゾー

2アミドの含有量は極めて少量で十分有効であり、多くの場合担体ベヒクル1gあたり約0.1gの濃度で十分である。

式Iを有する第2アミドを局所適用するとき、接触時間は極めて短かく(例えば10秒)でも十分である。必要に応じて、接触時間を約24時間まで延ばしてもよい。また必要に応じて、局所適用を所要回数繰り返してもよい。

式Iのサリチルアミドは公知であり、文献にも記載されている。サリチルアミドの代表的な合成法(ただしこれに限定されるつもりはないが)は日本特許公報56-161322号に開示されているので、詳細な記載は省略する。この化合物の一般的な製法は、低級アルキル( $R_a$ )サリチル酸エステルと塩化アシル( $R_x-CO-Cl$ )とをルイス酸の存在下で反応させて5-アシルサリチル酸のエステルを形成し、次いでこの5-アシルサリチル酸エス

ルもしくはベンゾチアゾール環である。置換ベンゼン環の場合、パラ位を $NO_2$ で、メタ位を $-COOC_2H_5$ で、パラもしくはメタ位を $-CF_3$ で置換し得る。 $R_3$ が上記した2種のヘテロ環連結基(attachment)の一つの場合には、第2アミド窒素原子はヘテロ環連結基のNo.2炭素原子を介して連結されている。上記したようにアクリロイルAN-10は、AN-10の2-ヒドロキシ基が $CH_2=CH-COO$ 基で置換されたAN-10のアクリル酸誘導体である。前記置換は、フェノール類のエステル化に通常利用されている方法でAN-10をエステル化することにより行なわれる。即ち、ピリジンあるいは他の塩基中でAN-10をアクリロイルを用いてエステル化するとエステル化生成物のアクリロイルAN-10が得られる。

一般的な方法として、5-アシルもしくは5-

アルキルサリチル酸前駆体を、収率が最適で、副反応が少なく、反応条件が面倒でなくかつ反応時間を短くしてフリーデルクラフトアシル化反応またはアルキル化反応を行うのに適当であるとして一般に考えられている媒体もしくは反応溶媒中で製造する。好ましい反応溶媒は二酸化炭素である。無水塩化アルミニウムまたは他のルイス酸を最初に二酸化炭素に加え、混合物を例えば氷で冷却する。次いで、アルキルサリチル酸エステル（例えばサリチル酸メチル）とハロゲン化アシル（例えば塩化物、あるいはハロゲン化アルキル）とを二酸化炭素あるいは他の溶媒中に含む溶液を徐々に加える。温度は約10℃以下に維持する。約24時間を要して反応完了後、反応生成物を氷水に注ぎ、混合物をエーテルの如き適当な溶媒で抽出する。エーテルまたは他の抽出物を水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥する。その後、エーテルまた

55℃～約80℃）でトリ塩化リンと反応させる。反応時間は通常約1～約5時間である。次いで、溶液を冷却し、適当な置換アニリンまたはヘテロ環アミン例えばp-ニトロアニリンを添加し、溶液を再び前記した如く適当な温度（例えば約55℃～約80℃）に約1～約5時間加熱し、反応が完結するまで例えば約24時間還流させる。続いて、溶媒を真空下で除去し、残渣を適当な溶媒例えばエタノールと水との混合物を用いて再結晶することにより精製する。得られた生成物は、本発明で使用するアミド化合物である。

5-n-デカノイルサリチル酸および前記酸からAN-10の合成方法は夫々日本特許公報第56-161322号の実施例1および2に詳細に記載されている。

日本特許公報第56-161322号の実施例3には、平均体重265gの白色雄ラット16匹に対して行な

は他の溶媒を真空蒸発させる。得られた固体残渣をエタノールの如き適当な溶媒に溶かし、アルカリ金属水酸化物溶液（例えば2N-NaOH溶液）で処理する。約80～120°に例えば水浴上で加熱後、物質（mass）を冷却し、適当な酸例えばHClでpH約1に酸性化すると生成物が沈殿する。エタノールを用いて再結晶すると、初期のフリーデルクラフト反応物質が酸ハロゲン化物またはハロゲン化アルキルによって精製された5-アシルサリチル酸または5-アルキルサリチル酸が得られる。

5-アシルもしくは5-アルキルサリチル酸を適当な置換アニリンまたは他のアミン（例えばAN-10の場合にはp-ニトロアニリン）とクロロベンゼンの如き適当な反応溶媒中で反応させる。望ましくは、5-アシルもしくは5-アルキルサリチル酸を予め、溶媒中で適当な温度（例えば約

ったAN-10の毒性テストが記載されている。前記実施例3では、AN-10の1回経口投与でのLD<sub>50</sub>はオスボーン-メンデル（Osborne-Mendel）白色ラットにおいて2000mg/kg以上であるとの結論を得ている。

本発明における他の好ましい化合物、即ちAPCF3-8、AMCF3-8、SAN-6、S-4-F、ACBXE-9、ABC-4およびRV-19の合成方法は本質的に、AN-10に対する合成方法を各反応物質を適当に置換させればよい。バティスタ、エー・ジェー（Batista, A. J.）, “サリチルアニリド；デザイン、合成およびデンタルプラーク形成微生物の抑制剤としてのイン・ビトロ評価（Salicylanilides: Design, Synthesis, and In Vitro Evaluation as Inhibitors of Dental Plaque-Forming Microorganisms）”. バッフ

アローのニューヨーク州立大学の博士論文を参照されたい。アクリロイルAN-10は前記したように、AN-10のフェノール性-OH基をピリジン中、塩化アクリロイルを用いてエステル化することによりAN-10から製造される。

他の合成方法は、日本特許出願第84-249441号および第84-249442号明細書に記載されている。

#### 実施例及び効果

以下の実施例で百分率量は重量による。

#### 実施例1, 2 & 3 および比較例4

1群5匹の雄性異系交配無毛マウスの耳に、公知の二価カルシウムイオノホア(ionophore)(抗生物質A-23187)4.0 nmolのアセトン溶液(全容量10 $\mu$ l)を局所投与して炎症を誘発する。この抗生物質はストレプトマイセス カルトロシス(*Streptomyces chartreusis*)に由来し、イオノホア活性(ionophoric activity)を示す化

E-mediated Mitogenic Stimulation of Mouse Epidermis *in vivo* by divalent cation ionophore A-23187 and by tumor promoter 12-O-tetradecanoyl phorbol-13-acetate」, キャンサー リサーチ(Cancer Res.), 第41巻, 第696頁(1981年)参照)。

各々のマウスで片耳だけを処置し、もう1方の耳はコントロールとして未処置のままにする。

A-23187の局所投与後4時間以内に時間と投与量の双方に依存して処置したマウスの耳に急性炎症が生じる。このイオノホアの投与30分後にステロイド系(ヒドロコルチゾン)抗炎症組成物と非ステロイド系(インドメタシン)抗炎症組成物を局所投与すると炎症が減少する。

実施例1, 2および3では、イオノホアA-23187の局所投与30分後に5匹の雄性異系交配無毛マウスの種々の群の処置した耳にそれぞれ化

合物の公知の群の1目である。たとえば、プレスマン(Pressman B. C.), 「イオノホアの生物学的応用(Biological Applications of Ionophores)」, アンニユアル レビュー オブ バイオケミストリー(Ann. Rev. Biochem.), 第45巻, 第501頁(1976年)参照。この化合物は、これをマウス背部に局所投与するインビボの腫瘍助長研究において白血球増殖, 紅斑(皮膚の発赤), 浮腫, 上皮肥大とそれに続く上皮過形成を伴う皮膚の刺激を引き起こす潜在能を有することがわかっている。マルクス(Marks, F.), フルシュデンベルガー(Furstenberger, G.)およびコウナツキイ(Kownatzki, E.), 「二価カチオンイオノホアA-23187と腫瘍助長剤12-O-テトラデカノイルホルボル-13-アセテートによるマウス上皮のインビボ プロスタグランジンE-媒介マイトジェン刺激(Prostaglandin

合物AN-10, APCF3-8及びAMCF3-8を局所投与する。特定のには、アセトンに溶かしたカルシウムイオノホア(A-23187, 4.0 nmole, 全容量10 $\mu$ l)の局所投与30分後、処置した雄性異系交配無毛マウスの耳にアミド化合物1.5 $\mu$  moleのアセトン溶液(全容量10 $\mu$ l)を局所投与する。既に指摘したように、各ケースで各マウスの1方の耳だけをテストに供しもう1方の耳は処置しないでおくことによって各マウス自体をそのコントロールとして利用する。イオノホア投与4時間後に紅斑と浮腫を評価する。比較例4では3,4',5-トリプロモサリチルアニリド(TBS)を同様に投与する。

TBSは構造上、式Iで-R<sub>1</sub>で-R<sub>1</sub>と-R<sub>2</sub>が各々-B<sub>1</sub>で-R<sub>3</sub>がパラ-プロモ置換ベンゼン環である化合物に非常に良く似ている。

上記のテストにおけるAN-10, APCF3-

8. AMCF3-8およびTBSの種々の程度の有効性を下記表1にまとめて示す。

表 1

カルシウムイオノホア(A-23187)によって生じたマウスの耳の炎症に対する選択アミド化合物の抗炎症活性

アミド化合物	浮腫の減少率(%)	紅斑の減少率(%)
実施例1 AN-10	59	59
実施例2 APCF3-8	48	57
実施例3 AHCF3-8	80	76
比較例4 TBS	12	35

抗炎症活性をテストした4種のアミド化合物の表1に掲げたデータから明らかなように、TBSだけが使用した濃度で実際上不活性であり、一方AN-10、APCF3-8およびAMCF3-8は全て有効な抗炎症剤である。2

して急性炎症を誘発する。その後、同じ耳にAN-10、AMCF3-8、ACBXE-9、アクリロイルAN-10、S-4-FおよびSAN-6のいずれかを投与して浮腫(炎症)の減少程度をみる。

これらの実施例で使用した方法は前に実施例で使用した方法とは2点で異なっている。第1に、本実施例では試験動物は種々の治療群に分け、各動物の各々の耳に同じ処置を施す、すなわち本実施例の試験動物は前の4つの実施例とは違ってコントロールとしては使えない。

第2番目に、紅斑の状態は記録しないので実際の耳の重量を(浮腫の減少に対する)唯一のデータとして用いる。耳の重量の測定は、抗生物質A-23187か他のコントロール物質を最初に投与した4時間後にCO<sub>2</sub>ガスを使用して動物を殺して行なう。その後、耳の内面に沿ってすぐにわかる

種の異性体APCF3-8とAMCF3-8(これらは-CF<sub>3</sub>基の位置が違っている)のうち、メタ異性体の方が活性はかなり高い。すなわちメタ異性体はパラ異性体に比べて浮腫減少活性で約30%以上、紅斑減少活性で約20%以上高い。

この事実は炎症減少および/または阻止プロセスにおける構造/機能の関係を示唆している。また、式Iのサリチルアミドの作用モードの基礎となる理論として、TBSが比較的有效性に劣るのはこの化合物のアルキル、アルカノイルまたは同様な-R<sub>1</sub>と-R<sub>2</sub>置換基(上記定義参照)が-Brで置換されて脂質親和性が低下し、そのため上皮透過が低下するためであるということが考えられる。

#### 実施例5~11

若い雄の成熟無毛異系交配マウス(Skh:hr-1株)の耳に抗生物質A-23187を4 n mole投与

特徴的な背線(ridge)に沿って耳を切り取る。湿った状態と乾いた状態の耳の重量を使用して存在する浮腫すなわち炎症の程度を決定する。

研究Aでは28匹の試験動物をランダムに4つの治療群(各群7匹)に分けて、次の耳処置を行なう。

A群 — A-23187

B群 — A-23187 + AN-10

C群 — AN-10

D群 — アセトン

各動物に対する投与処置は、指定した試験物質の溶液(またはD群の動物では純粋なアセトン)10μl容量を両方の耳の外面に、すなわち耳1つにつき試験物質20μlを適用することである。それぞれの物質のアセトン溶液中の濃度は、抗生物質A-23187の溶液10μl用量がこの抗生物質を4 n mole含有するような濃度である。AN-10の場

合のアセトン溶液の対応する量は  $1.5\mu\text{mole}$  である。A 群と B 群の動物は最初 A-23187 のアセトン溶液で処置する。B 群だけの場合は抗生物質 A-23187 のアセトン溶液を上記の量で適用した 1/2 時間後に適用した耳に AN-10 のアセトン溶液を  $10\mu\text{l}$  適用する。C 群の動物には耳 1 つにつき、AN-10 のアセトン溶液のみを  $10\mu\text{l}$  与える。D 群の動物には純粋なアセトンを耳 1 つあたり  $10\mu\text{l}$  投与する。試験動物は全て、A 群と B 群の動物では A-23187 の投与後、C 群と D 群の動物では他の供試物質の投与後 4 時間後に殺す。結果を下記表 2 にまとめて示す。

第 2 の研究 (研究 B) は、同一の便で輸送された 2 組のマウス (全部で 80 匹) を用いて 2 日間連続して行なう。

第 1 の組の 40 匹を 5 匹ずつ 8 グループに分けた。1 日目に 6 種のサリチルアミド: AN-10,

液にして適用した。1 日目に実施した研究と同じように、5 匹の動物から成る残りの 2 つのグループをコントロールとして用いそれらの耳にはそれぞれアセトン及び A-23187 を適用した。

1 日目と 2 日目に与えた各サリチルアミド化合物の量は一定であり、試験溶液  $10\mu\text{l}$  当たり  $1.5\mu\text{mol}$  であった。両日ともに A-23187 を与えてから 4 時間後に動物を殺しそして結果を記録した。表 2 に 2 日目における問題の 30 匹の動物各々と、すでに記載したようにコントロールとして用いた残りの 10 匹の動物の試験結果をまとめた。表 2 は試験した 6 種のサリチルアミド化合物のそれぞれにつき観察された浮腫 (edema) の減少率を示している。

AMCF3-8, ACBXE-9, アクリロイル AN-10, S-4-F 及び SAN-6 を試験溶液にして 5 匹の動物から成る各グループの未処置の耳に適用し、どの化合物が炎症作用を持っているか否かを確めた。5 匹の動物から成る残りの 2 つのグループはコントロールとして使用しそれらの耳にはそれぞれ A-23187 及びアセトンを適用した。試験物質及びコントロール物質のそれぞれの量及び投与方法は研究 A のところで記載したものと同一のものである。試験した 6 種の化合物のどれもが認められる程度の炎症を誘発しないことが判った。

2 日目に 40 匹のマウスから成る第 2 の組をそれぞれ 5 匹ずつの 8 つの組に更に分けて、問題の 6 種の化合物を、研究 A で記載の方法で A-23187 を用いて炎症を起こさせてあるマウスの耳にこれもまた研究 A で記載した方法に従ってアセトン溶

表 2

実施例	化 合 物	浮腫の減少 (%)	
		研究 A	研究 B
5, 6	AN-10	55	81
7	アクリロイル AN-10	•	82
8	AMCF3-8	•	81
9	ACBXE-9	•	76
10	S-4-F	•	70
11	SAN-6	•	59

・ 実験せず

上記の試験データによると試験した 6 種のサリチルアミド化合物、AN-10, アクリロイル AN-10, AMCF3-8, ACBXE-9, S-4-F 及び SAN-6 は全て該試験条件下に於いて顕著な抗炎症効果を示した。

AN-10に見られた活性レベルの違いはおそらく 1 日目に試験した 5 匹の動物と 2 日目に試験し



た5匹の動物の間の個体差とこの両日に於ける試験条件が同一でなかったことによるものと思われる。このような違いは各試験グループに於いてより多数の動物を用いること及び出来るだけ同じ条件下で同時にこのような試験を実施することによって減少させるかあるいはなくすことが出来るであろう。

#### 実施例12

AN-10化合物を活性成分として含む軟膏を調製した。この軟膏は以下の割合でそれぞれ成分を含む：

成 分	%
AN-10	1
無水ラノリン	2
粘性パラフィン	10
白色石油ゼリー	100になるまで添加

AN-10をそれと等量の式Iの化合物、例え

を含むことも出来る。

式Iの化合物を1種以上含む本発明に依る固形棒型組成物は例えば以下の成分を切削し型取りして調製される：

成 分	%
APCF3-8	1
カルナウバロウ	40
レシチン	40
メチルセルロース	10
グリセロール	5
水	100になるまで添加する

本実施例で得られた固形棒を実施例12で記載した軟膏と実質的に同じ方法で炎症を軽減すべく皮膚の上に塗布した。

#### 実施例14

この例は溶液形態の皮膚用抗炎症組成物の例である。該組成物の溶液形態は主に、0.001%~10

はAPCF3-8, AMCF3-8, ACBXE-9, アクリロイルAN-10, S-4-F及びSAN-6のいずれか1つ並びにそれらの混合物と置換して、類似の軟膏を形成する。

得られた軟膏を1cm<sup>2</sup>四方の罹患皮膚面積当たり0.01~500mgの活性化合物を広げるのに十分な量で皮膚に塗布し炎症状態を治療した。

#### 実施例13

二級アミドもまた固形状態の抗炎症組成物に含有され得る。このような形態のものは唇又は他の身体部分への適用を意図して棒型組成物として使われてきた。このような組成物は0.001~10%, 好ましくは0.01%~5%の式Iの化合物、例えばアクリロイルAN-10, 及び50%~98%、好ましくは60%~90%の軟化剤から主に成っている。該組成物は更に本質的に1%~20%、好ましくは5%~15%の適当な増粘剤、及び適宜乳化剤及び水

%、好ましくは0.01%~5%の式Iの化合物、例えばACBXE-9、及び適当な有機溶媒の残部から成っている。溶媒又は溶媒系の一部として有用な適当な有機物質は以下の通りである：プロピレングリコール、グリセリン、エタノール、ソルビトールエステル類、1,2,6-ヘキサントリオール、イソプロパノール、ジエチル酉石酸、ブタンジオール、及びそれらの混合物である。このような溶媒系には水も含むことが出来る。

従って、溶液を以下の様に調製した。

成 分	%
プロピレングリコール	10
グリセリン	27
ACBXE-9	1
エタール	50
水	100になるまで添加する

この溶液を実施例12の軟膏について記載した方

法と実質的に同じ方法によって罹患した皮膚に適用した。

出願人 ユニバー・ナムロー・ベンノ・ナターフ  
代理人 弁護士 川 口 義 雄

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**